

Mateusz Jakubiak*, Małgorzata Śliwka**

WPŁYW FOTOSTYMULACJI NA ZAWARTOŚĆ WYBRANYCH PIERWIASTKÓW W LIŚCIACH WIERZB ENERGETYCZNYCH

THE PHOTOSTIMULATION INFLUENCE ON THE CONTENT OF SELECTED ELEMENTS IN THE ENERGETIC WILLOW LEAVES

Słowa kluczowe: fotostymulacja, światło lasera, *Salix viminalis*, rekultywacja, biomasa.

Key words: photostimulation, laser light, *Salix viminalis*, reclamation, biomass.

Interdisciplinary researches demonstrate usefulness and numerous application possibilities of laser biostimulation in environmental engineering. Experiments on plants prove that appropriate stimulation of seeds or seedlings with coherent light may effect in faster growth, amplified resistance to contamination, or change in the degree of accumulation of certain elements in the tissues. These features may be particularly important for land management of areas affected by industrial pollution.

*The article presents research on differences in accumulation of selected elements in leaves of the following species of willow: *Salix viminalis* DuoTur and *Salix viminalis* Turbo. The comparative analysis included a control group and experimental groups of plants with cuttings subjected to coherent light stimulation using different irradiation parameters. Cuttings of all groups were cultivated on the soil with increased level of salinity. Chemical analysis of biomass of leaves was carried out at the end of the first vegetation season. During the year of vegetation the gain in biomass was also measured and the condition of plants was observed.*

* *Mgr inż. Mateusz Jakubiak – Katedra Biotechnologii Środowiskowej i Ekologii, Wydział Geodezji Górniczej i Inżynierii Środowiska, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków; tel.: 696 771 285; e-mail: jakubiak@agh.edu.pl*

** *Dr inż. Małgorzata Śliwka – Katedra Biotechnologii Środowiskowej i Ekologii, Wydział Geodezji Górniczej i Inżynierii Środowiska, Akademia Górniczo-Hutnicza w Krakowie, Al. A. Mickiewicza 30, 30-059 Kraków; tel.: 12 617 47 39; e-mail: sliwka@agh.edu.pl*

1. WPROWADZENIE

Wieloletnie, interdyscyplinarne badania potwierdzają wiele możliwości zastosowania biostymulacji laserowej w inżynierii środowiska. Z doświadczeń prowadzonych na roślinach wynika, że efektem zastosowania stymulacji nasion lub sadzonek światłem spójnym emitowanym przez lasery małej mocy może być przyspieszenie wzrostu oraz zwiększenie odporności na zanieczyszczenia. Badania dowiodły, że odpowiednio dobrane do materiału roślinnego parametry fotostymulacji, takie jak: długość fali światła, gęstość energii, czas naświetlania i sposób ekspozycji, mogą wywołać zmianę stopnia kumulacji niektórych pierwiastków w tkankach [Dobrowolski 1999 i 2001, Zielińska-Loek 2001]. Przy zastosowania algorytmów naświetlania powodujących wzrost fitoremediacyjnych zdolności roślin w odniesieniu do niektórych zanieczyszczeń metoda ta może znaleźć zastosowanie w biologicznym zagospodarowaniu gruntów skażonych przemysłowo [Jakubiak, Śliwka 2006 i 2008]. Wykorzystanie tej metody może również znaleźć zastosowanie w roślinnych oczyszczalniach ścieków [Dobrowolski i in. 2002, Śliwka 2007].

Celem obecnie prowadzonych badań na wierzbach energetycznych jest opracowanie na drodze doświadczalnej algorytmów stymulacji zrzesów wierzb światłem laserów małych mocy, które będą wpływały na przyspieszenie i zwiększenie przyrostu biomasy a także ograniczenie negatywnego wpływu stresu solnego na wzrost i rozwój roślin. Badania przedstawione w niniejszym artykule miały na celu sprawdzenie różnic w akumulacji wybranych pierwiastków śladowych w liściach wierzb *Salix viminalis* DuoTur oraz *Salix viminalis* Turbo, których zrzesy były przed posadzeniem poddane fotostymulacji, a następnie uprawiane na glebie o podwyższonym zasoleniu.

2. MATERIAŁ I METODYKA BADAŃ

Przedstawione badania prowadzone nad wpływem spójnego światła laserów małej mocy na różnych gatunków wierzb energetycznych są rozwinięciem wstępnych badań laboratoryjnych prowadzonych jako uprawa hydroponiczna zrzesów wierzb [Jakubiak 2005]. Opierając się na wynikach uzyskanych podczas wstępnych doświadczeń ustalono najbardziej optymalne źródła i parametry światła, którego działaniu zostały poddane zrzesy dwóch polskich odmian wierzby wiciowej: *Salix viminalis* Turbo i *Salix viminalis* DuoTur.

Wybrane parametry stymulacji zrzesów dawały w doświadczeniach laboratoryjnych najlepsze wyniki w przyspieszeniu wzrostu roślin i zmniejszeniu ich wrażliwości na zasolenie roztworów hydroponicznych.

Światło emitowane przez wykorzystane do stymulacji lasery małych mocy to bardzo skupiona wiązka, równoległa do osi rezonatora. Spójne światło laserów charakteryzuje bardzo duża intensywność, a także jest monochromatyczne – emitowane światło o ściśle określonej długości fali odpowiadającej barwie światła. Zastosowane do fotostymulacji materiału roślinnego promieniowanie laserowe jest promieniowaniem optycznym, czyli falą elektro-

magnetyczną niosącą ze sobą energię. Efekt wywołany biostymulacją jest związany głównie z absorpcją kwantów energii promieniowania przez określone fotoreceptory, którymi mogą być związki aktywne biologicznie lub organelle komórkowe [Karu 1990].

Jako źródeł światła laserowego wykorzystanego w opisywanym doświadczeniu do naświetlenia zrzeczów wierzb przed ich posadzeniem użyto:

- medycznego aplikatora laserowego „Laser D68-1” produkcji Marp Electronic o mocy 20 mW, emitującego pulsacyjne światło o długości fali $\lambda=670$ nm, odpowiadającej barwie czerwonej,
- diody laserowej produkcji Changchun New Industries Optoelectronics Tech Co. o mocy 20 mW, emitującej stałe światło o długości fali $\lambda=473$ nm, odpowiadającej barwie niebieskiej.

W doświadczeniu użyto po 60 zrzeczów odmiany *Salix viminalis* Turbo oraz 60 zrzeczów *Salix viminalis* DuoTur. Zrzezy podzielono na 6 grup jednakowej liczebności:

- grupa Turbo K – zrzezy *Salix viminalis* Turbo, niepoddane stymulacji przed posadzeniem (grupa kontrolna),
- grupa Turbo LM – zrzezy *Salix viminalis* Turbo, przed posadzeniem poddane stymulacji światłem medycznego aplikatora laserowego, naświetlane 3 razy po 30 sekund,
- grupa Turbo DN – zrzezy *Salix viminalis* Turbo, przed posadzeniem poddane stymulacji światłem diody laserowej, naświetlane 3 razy po 30 sekund,
- grupa DuoTur K – zrzezy *Salix viminalis* DuoTur, niepoddane stymulacji przed posadzeniem (grupa kontrolna),
- grupa DuoTur LM – zrzezy *Salix viminalis* DuoTur, przed posadzeniem poddane stymulacji światłem medycznego aplikatora laserowego, naświetlane 3 razy po 30 sekund,
- grupa DuoTur DN – zrzezy *Salix viminalis* DuoTur, przed posadzeniem poddane stymulacji światłem diody laserowej, naświetlane 3 razy po 30 sekund.

Zrzezy zostały wysadzone na teren doświadczalny z glebą o podwyższonym zasoleniu, którą stanowiła glina pylasta. Pod koniec okresu wegetacyjnego, w październiku, dokonano ostatnich obserwacji i pomiarów wzrostu roślin oraz zebrano biomasę liści, którą następnie wysuszono, rozdrobniono w młynku laboratoryjnym i poddano analizie chemicznej. Zawartość kadmu, ołowiu, cynku oraz miedzi w materiale roślinnym oznaczono po suchej mineralizacji i rozтворzeniu popiołu w HNO_3 (1:3). Stężenie pierwiastków w uzyskanych ekstraktach oznaczono metodą atomowej spektrometrii emisyjnej, opartej na palniku indukcyjnie wzbudzonej plazmy (ISP-AES) w aparacie JY 238 ULTRACE Jobin Von Emission.

3. WYNIKI I OMÓWIENIE

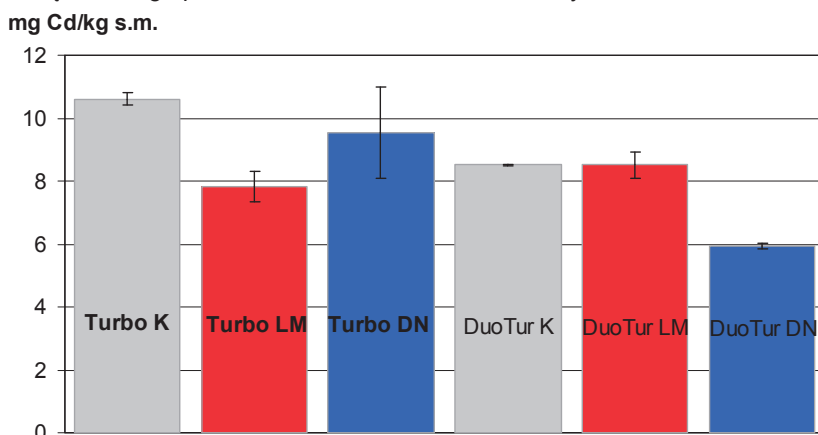
Zebrana biomasa liści po pierwszym okresie wegetacyjnym różniła się pomiędzy poszczególnymi grupami. Zarówno w odmianie *Salix viminalis* Turbo, jak i *Salix viminalis* DuoTur największą ilość biomasy liści uzyskano z grup, których zrzezy zostały przed posadzeniem poddane działaniu światła diody laserowej. Sucha masa liści wynosiła w tych grupach odpowiednio 226,6 g i 244,2 g, biomasa liści zebranych z grup kontrolnych wynosiła

natomiast po wysuszeniu 137,2 g (*Salix viminalis* Turbo) i 120,8 g (*Salix viminalis* DuoTur).

Porównania wyników analizy chemicznej dokonano pomiędzy grupami kontrolnymi a grupami doświadczalnymi, a także pomiędzy obiema odmianami wierzb. W biomacie liści odmiany *Salix viminalis* DuoTur odnotowano mniejszą zawartość kadmu niż u *Salix viminalis* Turbo, przy czym najniższą zawartość Cd wynoszącą 5,94 mg/kg s.m. oznaczono w grupie DuoTur DN. Zawartość kadmu w częściach naziemnych roślin może być bardzo zróżnicowana jednak koncentracje określane są jako fitotoksyczne dla roślin wrażliwych na poziomie 5–10 mg/kg oraz dla odpornych na poziomie 10–30 mg/kg [Kabata-Pendias, Pendias 1999]. Stosunkowo duża zawartość kadmu w liściach mogła być spowodowana obecnością w glebie chloru, który stymuluje pobieranie kadmu przez rośliny.

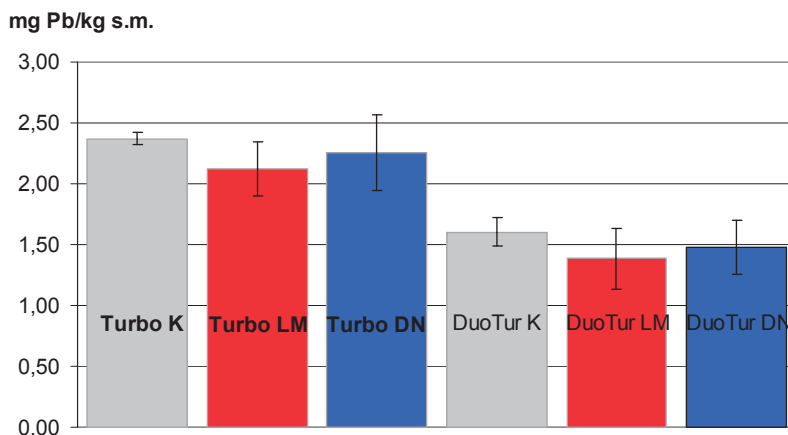
Przyczyną braku widocznych objawów zwiększonej zawartości kadmu w liściach wierzb mogła być duża zawartość cynku, który jako ważny pierwiastek antagonistyczny dla kadmu, ma przy zwiększonej zawartości istotny wpływ na ograniczenie jego toksyczności. [Kabata-Pendias, Pendias 1999]

Pobieranie ołowiu przez korzenie roślin jest procesem biernym i proporcjonalnym do występowania jego rozpuszczalnych form w glebie. Oznacza to, że wraz ze zwiększeniem się zawartości ołowiu w roztworze glebowym rośnie jego koncentracja w tkankach roślinnych. Intensywność pobierania ołowiu zależy zarówno od właściwości roślin jak i od warunków glebowych, jednak zawartość ołowiu w biomacie z wszystkich grup wierzb nie odbiegała od danych literaturowych podawanych dla liści innych roślin uprawianych na glebach nieskażonych [Kabata-Pendias, Pendias 1999]. W biomacie liści obu odmian wierzb oznaczono nieznacznie mniejszą zawartość ołowiu w grupach doświadczalnych. Porównując zawartość ołowiu między odmianami wyraźnie zaznacza się o ponad 30% mniejsze stężenie tego pierwiastka w biomacie liści odmiany *Salix viminalis* DuoTur.



Rys. 1. Porównanie zawartości Cd [mg/kg s.m.] w biomacie liści w poszczególnych grupach doświadczalnych na koniec pierwszego okresu wegetacyjnego

Fig. 1. Comparison of Cd [mg/kg d.m.] contamination in biomass of leaves in experimental groups after first growth season



Rys. 2. Porównanie zawartości Pb [mg/kg s.m.] w biomase liści w poszczególnych grupach doświadczalnych na koniec pierwszego okresu wegetacyjnego

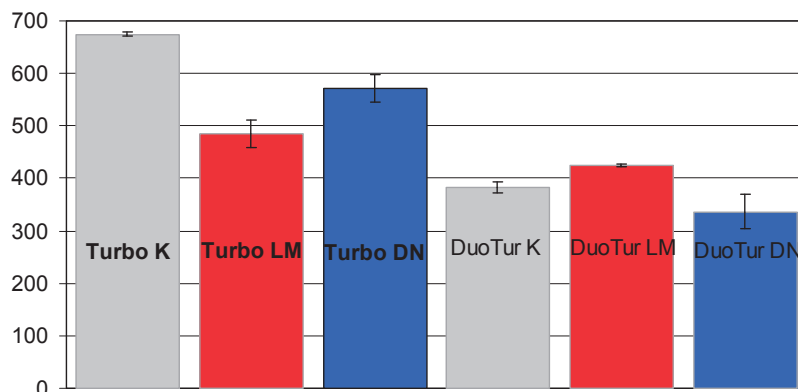
Fig. 2. Comparison of Pb [mg/kg d.m.] contamination in biomass of leaves in experimental groups after first growth season

Średnia zawartość cynku w nadziemnych częściach roślin uprawianych na glebach nieskażonych zawiera się między 10–70 mg/kg [Kabata-Pendias, Pendias 1999], jednak wiele analiz przeprowadzonych na wierzbach wiciowych wykazało, że rośliny te mają znacznie większe stężenie cynku w swoich tkankach, które nie powoduje efektu fitotoksyczności. Wśród pierwiastków śladowych najwięcej w biomase wierzb energetycznych jest właśnie cynku, przy czym jego kumulacja w tkankach wierzyby jest znacznie większa niż u innych roślin energetycznych [Kalembasa 2006]. W analizowanych grupach *Salix viminalis* DuoTur zaznacza się mniejsza zawartość Zn w biomase liści niż w grupach *Salix viminalis* Turbo. W porównaniu z grupą kontrolną w grupach doświadczalnych odmiany Turbo zaznacza się mniejsza o 28% (Turbo LM) i 15% (Turbo DN) koncentracja cynku w biomase liści.

Miedź jest niezbędna do normalnego rozwoju i wzrostu roślin jednak, ale tylko jej niedobór, ale również nadmiar powoduje zaburzenia różnych procesów. Zawartość miedzi w roślinach jest bardzo zróżnicowana w zależności od części rośliny, stadium rozwojowego, odmiany, gatunku oraz stężenia w glebie. Średnia zawartość miedzi w nadziemnych częściach roślin waha się od 5 do 20 mg/kg [Kabata-Pendias, Pendias 1999]. Zawartość miedzi w biomase liści obu odmian mieści się w średniej dla roślin uprawianych na glebach nieskażonych.

Podobnie jak w przypadku wcześniej analizowanych pierwiastków również zawartość miedzi jest mniejsza u roślin odmiany *Salix viminalis* DuoTur. W naświetlanych grupach wierzb odmiany *Salix viminalis* Turbo oznaczono jednak większą o ok. 10% koncentrację w grupach doświadczalnych w porównaniu z grupą kontrolną.

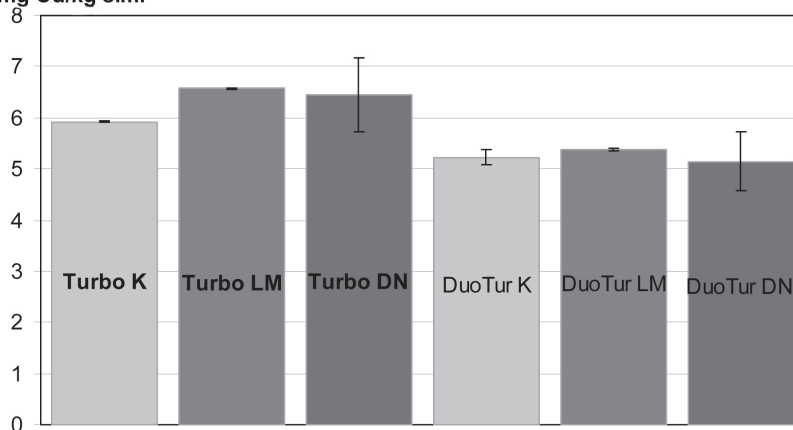
mg Zn/kg s.m.



Rys. 3. Porównanie zawartości Zn [mg/kg s.m.] w biomase liści w poszczególnych grupach doświadczalnych na koniec pierwszego okresu wegetacyjnego

Fig. 3. Comparison of Zn [mg/kg d.m.] contamination in biomass of leaves in experimental groups after first growth season

mg Cu/kg s.m.



Rys. 4. Porównanie zawartości Cu [mg/kg s.m.] w biomase liści w poszczególnych grupach doświadczalnych na koniec pierwszego okresu wegetacyjnego

Fig. 4. Comparison of Cu [mg/kg d.m.] contamination in biomass of leaves in experimental groups after first growth season

Wcześniejsze doświadczenia prowadzone na innych odmianach wierzby wiciowej wykazały, że przy zastosowaniu odpowiedniej stymulacji światłem lasera argonowego można uzyskać prawie dwukrotne zwiększenie kumulacji miedzi [Zielińska-Loek, Różanowski, Dobrowolski 2002].

4. WNIOSKI

1. Dla obu odmian wierzb największy przyrost biomasy liści uzyskano w grupach naświetlanych diodą laserową emitującą światło o długości fali $\lambda=473$ nm odpowiadającej barwie niebieskiej.
2. We wszystkich analizowanych pierwiastkach śladowych (Cd, Pb, Zn, Cu) zaobserwowano mniejszą ich zawartość w liściach wierzby odmiany *Salix viminalis* DuoTur w porównaniu do zawartości w liściach wierzby z odmiany *Salix viminalis* Turbo.
3. Zaobserwowano zmniejszenie kumulacji Cd i Pb w biomase liści u naświetlanych grup doświadczalnych obu odmian wierzb.
4. Zaobserwowano zmniejszenie kumulacji Zn w biomase liści w naświetlanych grupach doświadczalnych Turbo LM, Turbo DN oraz DuoTur DN, kumulacja Zn natomiast w grupie DuoTur LM była większa w porównaniu z kumulacją w grupie kontrolnej.
5. W porównaniu z grupami kontrolnymi zawartość Cu zwiększała się w liściach grup Turbo LM, Turbo DN oraz DuoTur LM.

Badania wykonane w ramach grantu badawczego KBN 18.18.150.892 (N305 035 32/1398).

PIŚMIENNICTWO

- DOBROWOLSKI J.W. 1999. Ocena możliwości zastosowań biotechnologii laserowej w działaniach proekologicznych. Biotechnologia Środowiskowa, Wrocław.
- DOBROWOLSKI J.W. 2001. Biotechnologia proekologiczna kluczem do unowocześnienia inżynierii środowiska. Inżynieria Środowiska t.6. AGH, Kraków.
- DOBROWOLSKI J.W., RÓŻANOWSKI B., ŚLIWKA M. 2002. Perspectives of application of laser biostimulation for more efficient bioremediation of soil and waste water. International Conference on Bioremediation of Soil and Groundwater. Wyd. Politechnika Śląska, Gliwice.
- JAKUBIAK M. 2005. Wykorzystanie biostymulacji laserowej w celu zwiększenia możliwości zastosowania wierzby energetycznej (*Salix* sp.) do rekultywacji gleb zasolonych. Obieg Pierwiastków w Przyrodzie. Monografia t. III. Instytut Ochrony Środowiska, Warszawa.
- JAKUBIAK M., ŚLIWKA M. 2006. The application of laser biostimulation for more efficient phytoremediation of soil and waste water. Polish Journal of Environmental Studies vol. 15. Wyd. Hard., Olsztyn.
- JAKUBIAK M., ŚLIWKA M. 2008. Zagospodarowanie i rekultywacja terenów o podwyższonym zasoleniu zdegradowanych w wyniku działalności górniczej. Gospodarka Surowcami Mineralnymi t. 24, z. 3/3. Wydawnictwo IGSMiE PAN, Kraków.
- KABATA-PENDIAS A., PENDIAS H. 1999. Biogeochemia pierwiastków śladowych. Wydawnictwo Naukowe PWN SA, Warszawa.

- KALEMBASA D. 2006. Ilość i skład chemiczny popiołu z biomasy roślin energetycznych. *Acta Agrophysica* 7(4).
- KARU T.J. 1990. Effects of visible radiation on cultured cells. *Photochemistry Photobiology* vol 52.
- ŚLIWKA M. 2007. Wpływ stymulacji laserowej na zwiększenie przyrostu biomasy oraz zdolności bioremediacyjnych roślin wykorzystywanych w hydrofitowych oczyszczalniach ścieków. *Ochrona Środowiska i Zasobów Naturalnych*. Instytut Ochrony Środowiska. Warszawa.
- ZIELIŃSKA-LOEK A. 2001. The perspectives of reduction of health hazard of consumers by use of laser photostimulation of plants for management of regions of main roads. *Polish Journal of Environmental Studies* vol.11. Supplement I. Wyd. Hard., Olsztyn.
- ZIELIŃSKA-LOEK A., RÓŻANOWSKI B., DOBROWOLSKI J.W. 2002. Perspektywy zwiększenia skuteczności fitoremediacji poprzez stymulację laserową roślin. *Bioremediacja gruntów*. III Ogólnopolskie Sympozjum Naukowo-Techniczne, Wisła-Jarzębata.